

ANTONIO CARLOS BAGATIN

DEFICIÊNCIA DE DESIDROGENASE DE 6-FOSFATO DE GLICOSE
EM RECÉM-NASCIDOS E HIPERBILIRRUBINEMIA NEONATAL

Dissertação ao nível de Mestrado em Pediatria,
apresentada à Universidade Federal do Paraná.

- DEPARTAMENTO DE PEDIATRIA -

CURITIBA

Estado do Paraná

1979

Dedico este trabalho

a meus pais José e Maria,
à minha esposa Regina Coeli.

AGRADECIMENTOS

O autor expressa seu agradecimento a todos aqueles que de alguma maneira colaboraram na realização deste trabalho e de maneira particular:

Ao Prof. Bernardo Beiguelman

- ORIENTADOR -

Aos Profs. Izrail Cat e

Dinarte José Giraldi

- CO-ORIENTADORES -

Aos Profs. Noboro Miasaki,

Nelson Egydio de Carvalho,

Francisco Antonio Marçallo,

Luiz José Bowe Kesikowski,

Glacy Therezinha Zancan.

Aos Médicos Residentes do Departamento de Pediatria do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná,

aos Médicos Residentes do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná,

às enfermeiras e auxiliares de enfermagem do Centro Obsts
tétrico e dos berçários da Maternidade do Hospital de Clínicas
da Universidade Federal do Paraná,

aos colegas de Pós-Graduação em Pediatria a Nível de Mestr
trado,

à Bibliotecária Suzana Guimarães Castilho, suas auxiliares
e demais funcionários da Biblioteca do Setor de Ciências da
Saúde da Universidade Federal do Paraná,

ao Dr. Enio Rogacheski,

à Datilógrafa Suely Terezinha Kaminski.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS	13
CASUÍSTICA E MÉTODOS	15
1. POPULAÇÃO DE REFERÊNCIA	16
2. POPULAÇÃO DE ESTUDO	16
3. EQUIPE DE TRABALHO	16
4. VARIÁVEIS ESTUDADAS	17
5. CRITÉRIOS DIAGNÓSTICOS	17
6. COLHEITA DO MATERIAL	18
7. TÉCNICA PARA DETECÇÃO DE DEFICIÊNCIA DE G-6-PD	19
8. TRATAMENTO ESTATÍSTICO	21
RESULTADOS	24
DISCUSSÃO	36
CONCLUSÕES	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

INTRODUÇÃO

A hiperbilirrubinemia constitui um problema diário e dos mais frequentes em Neonatologia ⁶⁶. A procura de meios diagnósticos adequados tem sido uma constante, objetivando um manejo eficiente dessa condição patológica. Consequentemente, o conhecimento perfeito dos fatores desencadeantes de hiperbilirrubinemia no recém-nascido é a primeira etapa na abordagem do problema.

As incompatibilidades sanguíneas materno-fetais ABO e Rh estão entre as causas mais frequentes de hiperbilirrubinemia em nosso meio ²⁵. No entanto, tem-se observado que, em muitos casos de hiperbilirrubinemia nos nossos recém-nascidos, não se tem chegado a um diagnóstico quanto à sua etiologia. Aliás, na análise desses casos, na Disciplina de Neonatologia, a possibilidade de uma enzimopenia sempre surgiu como uma das hipóteses diagnósticas.

Dentre essas enzimopenias aventadas, a mais frequentemente relacionada à icterícia neonatal e observada na população geral é a deficiência de Desidrogenase de 6-fosfato de glicose (G-6-PD) ⁴³.

Os eritrócitos humanos não possuem núcleo, ribossomos, mitocôndrios e aparelho de Golgi, não tendo, portanto, capacidade de sintetizar proteínas nem de obter energia por meio do

ciclo aeróbico. Sintetizam apenas compostos simples como o glut
tatião e obtêm energia por intermédio do ATP produzido durante
a glicólise anaeróbica que é realizada pela via glicolítica e
pelo ciclo das pentoses ^{6, 78}. As deficiências enzimáticas da
via glicolítica podem provocar quadros clínicos severos de anem
ia hemolítica, porém são muito raras ⁴³.

A primeira enzima envolvida no ciclo das pentoses é a
Desidrogenase de 6-fosfato de glicose. Por intermédio do ciclo
das pentoses obtêm-se a redução do NADP (Fosfato de Nicotinamin
da Adenina Dinucleotídeo) e do glutatío, que protegem a hemog
lobina da desnaturação oxidativa ¹⁰³.

A deficiência de G-6-PD pode provocar importantes alteraç
ões no metabolismo das hemácias, entre as quais ⁶:

1. alteração na atividade das duas vias do metabolis
mo da glicose nas hemácias, porque o nível de 6-
fosfato de glicose contribui para controlar a utiliz
ação de glicose por essas células;
2. a falta de glutatío reduzido (GSH), porque a redut
ase de glutatío oxidado requer NADPH como co-enzima;
3. a falta de NADPH, pois ele é gerado durante a transfor
mação de 6-fosfato de glicose em 6-fosfogliconato;
4. hemólise, pois o glutatío reduzido tem importância
fundamental para a manutenção da integridade das hem
ácias, sendo responsável pelos grupos tiol das enz
imas citoplasmáticas e da membrana celular;

5. metemoglobinemia, em decorrência da diminuição da redutase de metemoglobina que requer NADPH como coenzima.

Pode-se correlacionar alterações decorrentes dessa enzimopenia com a severidade de sua deficiência ⁶¹. No entanto, a gravidade das manifestações hemolíticas das diversas variantes de G-6-PD são atribuídas a vários fatores:

1. se a atividade de G-6-PD é extremamente baixa, próximo a zero, a hemólise ocorre devido à falta da enzima, como acontece nas variantes Worcester, New York e Ramat Gan ⁶¹, cujos portadores apresentam anemia hemolítica crônica;
2. variantes de G-6-PD instáveis podem apresentar hemólise, mesmo que a atividade da enzima seja maior que 5%. Observa-se isso nas variantes Long Praire, Chicago e Bangkok ⁶¹;
3. a hemólise pode estar associada à anormalidade cinética de algumas variantes, como altos valores da constante de Michaelis (Km), isto é, baixa afinidade pelo substrato. Isto ocorre com as variantes Manchester, Alhambra e Tripler ⁶¹;
4. em condições de normalidade, a atividade da G-6-PD está bastante suprimida, sendo que somente 0,1% a 0,2% da sua atividade máxima é expressa. A concentração de glutatíão reduzido mantém-se inalterada nas células normais sob condições que alterem o

equilíbrio de óxido-redução, devido à estimulação do ciclo das pentoses. No caso de células deficientes quantitativa ou qualitativamente, a estimulação seria insuficiente para sobrepujar essa condição de desequilíbrio de óxido-redução, resultando numa diminuição dos níveis de glutatião reduzido ¹⁰³.

Entre os fatores que alteram o equilíbrio de óxido-redução estão certas drogas ¹⁰. A cadeia de acontecimentos que se inicia com a administração de uma substância oxidante e termina com a destruição dos eritrócitos num indivíduo deficiente de G-6-PD poderia ser sintetizada da seguinte maneira ^{10, 44}.

1. a substância seria metabolizada até uma forma ativa;
2. os derivados ativos interagiriam com a oxi-hemoglobina, produzindo peróxido;
3. o peróxido oxidaria o glutatião reduzido das hemácias;
4. o glutatião oxidado (GSSG) formado seria reduzido a glutatião reduzido (GSH) pelo sistema da redutase de glutatião, sendo que o NADPH (fosfato de nicotinamida adenina denucleotídeo reduzido) seria o doador de hidrogênio. Este sistema reduziria os dissulfetos hemoglobina-GSH;
5. na ausência de NADPH acumular-se-iam dissulfetos hemoglobina-GSH na célula e ela deteriorar-se-ia. Este

processo levaria à perda de radicais heme da hemoglobina, que se ligariam a grupos sulfidrilas da membrana, formando os corpúsculos de Heinz;

6. devido a essas alterações, as hemácias poderiam ser destruídas ao passarem pelo baço.

A enzima G-6-PD normal e suas variantes são determinadas por um sistema de alelos do cromossomo X. A variante B, de atividade normal, é a mais frequentemente encontrada nos seres humanos⁶. Devido ao tipo da determinação genética das variantes de G-6-PD, aquelas que provocam manifestações clínicas afetam preferencialmente os indivíduos do sexo masculino. Tais variantes nem sempre têm oportunidade de expressão fenotípica ao nível clínico, nas mulheres heterozigotas, apesar de elas serem identificadas laboratorialmente. As mulheres heterozigotas de genes deficientes de G-6-PD manifestam um grau variável de sinais clínicos porque apresentam uma distribuição em mosaico de células deficientes e células normais circulando em sua corrente sangüínea. A proporção dessas duas populações de células varia muito nos heterozigotos, com consequências clínicas paralelas^{9, 24}.

São descritas mais de 100 diferentes variantes de G-6-PD^{61, 94}, sendo que a metade delas não apresenta interesse clínico, por não exibir atividade deficiente ou porque a deficiência que manifesta é muito discreta⁶.

As inúmeras variantes de G-6-PD são divididas em cinco classes, de acordo com a sua atividade nos eritrócitos e manifestações clínicas¹⁰²:

CLASSE 1: deficiência enzimática severa com anemia hemolítica crônica não-esferocítica;

CLASSE 2: deficiência enzimática severa (até 10% do normal);

CLASSE 3: deficiência enzimática moderada a discreta (10 a 60% do normal);

CLASSE 4: deficiência enzimática discreta ou atividade enzimática normal;

CLASSE 5: atividade enzimática aumentada.

A distribuição entre essas classes nem sempre é bem definida. Por exemplo, a variante Mediterrâneo de G-6-PD foi incluída na classe 2, apesar de terem sido relatados casos em que ela estava associada à anemia hemolítica crônica não-esferocítica. Algumas variantes englobadas na classe 1, devido à severa lesão funcional que causam, na realidade têm maior atividade enzimática in vitro que variantes da classe 3. As variantes da classe 1 são de incidência rara e supõe-se que causem anemia hemolítica crônica por apresentarem atividade enzimática quase nula. No entanto, nem sempre é isso que ocorre. Segundo Lisker et al.⁶¹, certas variantes são incluídas na classe 1 por serem extremamente instáveis, e não por terem atividade nula. É o caso das variantes Chicago e Bangkok.

Embora não provoquem anemia hemolítica crônica, com exceção da variante Mediterrâneo⁶, as variantes das classes 2 e

3 merecem maior atenção do ponto de vista médico, pois estão frequentemente associadas à hiperbilirrubinemia no período neonatal, crises de hemólise e alta frequência em certas populações^{6,12,71}. Entre as variantes dessas classes, as principais são a variante Mediterrâneo, frequente entre os indivíduos da região do Mediterrâneo, e a variante A⁻, esta última comum em negróides¹⁰².

Sabe-se que um grande número de drogas pode causar hemólise em indivíduos deficientes de G-6-PD. Estas manifestações são observadas tipicamente em negróides, sendo que a observação de hemólise, desencadeada em indivíduos suscetíveis, após administração de antimaláricos, foi que levou à descoberta da deficiência de G-6-PD^{23,28,49}. No entanto, a hemólise pode ocorrer em qualquer indivíduo deficiente⁶. Certas drogas, menos ativas, desencadeiam hemólise somente em indivíduos portadores de variantes severamente deficientes, diferentes da variante A⁻ dos negróides^{6,10,78}. Fatores individuais explicam diferentes achados em relação a uma mesma droga⁹⁹. Certas drogas, como aspirina, fenacetina, ácido ascórbico, azul de metileno, atebraína, cloranfenicol, vitamina K e derivados, parecem desencadear hemólise quando associadas a outros fatores tais como infecção e o período etário neonatal³⁵. Nos indivíduos com a variante A⁻, a crise hemolítica provocada por medicamento se inicia 24-48 horas após a medicação, sendo a severidade da crise bastante variável. Pode se exteriorizar por discreta anemia transitória, imperceptível pelo indivíduo, mas também pode chegar a ser grave, com aparecimento de dores musculares, abdominais e lombares, icterícia, hemoglobinúria e reticulocitose. Suspensa a medicação, voltará à normalidade em poucas semanas⁶.

A ocorrência da hemólise devido a infecções é frequente 15, 26, 48, 54, 87, chegando mesmo a ser mais frequente que os episódios relacionados a drogas ²⁰. Merecem particular atenção os casos associados à hepatite viral, que, dada a lesão hepática, podem ocasionar icterícia grave ^{54, 81, 87}.

O favismo, ou febre primaveril de Bagdá, compromete indivíduos com fenótipo Gd(-), Mediterrâneo, quase que exclusivamente ^{6, 65}. Nesses indivíduos a ingestão de favas ou mesmo a simples inalação do pólen dessa leguminosa pode levar ao desencadeamento de grave crise hemolítica em 24 horas. Durante a evolução do favismo pode-se observar aumento de temperatura, tremores provocados pela sensação de frio intenso, vômitos, enxaqueca, perturbação da consciência e choque. Apesar de a hemólise ser predominantemente intravascular, o baço e o fígado apresentam-se aumentados. Embora a deficiência de G-6-PD seja pré-requisito para a ocorrência do favismo, parece haver necessidade de um outro fator concomitante para que isso ocorra. Stamatoyannopoulos et al. ⁹² observaram que, quando toda uma família de indivíduos deficientes de G-6-PD ingeria favas, somente alguns desencadeavam crise hemolítica. A fava é rica em L-Dopa e o seu metabólito, Dopaquinona, leva à oxidação do glutatião reduzido. Beutler ⁹ sugeriu que tirosinase em excesso ou uma incapacidade de remover Dopaquinona seria uma segunda anormalidade metabólica envolvida na produção do favismo.

A manifestação clínica menos frequente relacionada à deficiência de G-6-PD é a anemia hemolítica crônica não-esferocítica. Anemia e, algumas vezes, discreta icterícia, persistem por toda a vida, mesmo na ausência de exposição a drogas ou outros fatores predisponentes, e é acompanhada de moderada esple

nomegalia. O quadro hematológico é de uma anemia crônica não-esferocítica, com reticulocitose, diminuição do tempo de sobrevida das hemácias e aumento de auto-hemólise. O estudo morfológico dos eritrócitos pode evidenciar formas próximas ao normal ou pequeno número de células fragmentadas, policromatofilia e anisocitose. Concomitantemente à anemia hemolítica crônica, ocorrem episódios agudos de hemólise, desencadeados por infecções ou exposição a certas drogas ⁹⁹.

Um aspecto importante relacionado à deficiência de G-6-PD é o paralelismo que se observa entre esta enzimopenia e a ocorrência de malária em áreas tropicais e subtropicais. Apesar de existirem alguns achados conflitantes, parece que a deficiência de G-6-PD constitui-se em um fator de proteção contra a malária, principalmente contra o P. falciparum ^{24,38,42,56,65}.

Panizon ⁷⁹, Smith & Vella ⁹¹ e Doxiadis et al. ⁷⁹ foram os primeiros a descrever hiperbilirrubinemia no recém-nascido devido à deficiência de G-6-PD. A partir dessa época, tem-se descrito inúmeros casos de hiperbilirrubinemia nas mais diferentes partes do mundo ^{27, 38, 45, 71, 82, 91, 100}, tornando-se uma entidade clínica bem conhecida.

A hiperbilirrubinemia por deficiência de G-6-PD é mais frequente entre as crianças Gd(-), Mediterrâneo ^{13, 31}. Porém, também as crianças Gd(-), Cantão ^{19, 40} ou, menos frequentemente, portadoras de outras variantes podem manifestar hiperbilirrubinemia neonatal ⁶, que pode terminar em kernicterus. ^{29, 91}. Nas populações do Mediterrâneo, principalmente na Itália e Grécia ^{6,67}, a hiperbilirrubinemia severa é encontrada

em alta frequência, embora ocorram variações nas diferentes áreas dessa região. Por exemplo, a incidência é de 5% entre os recém-nascidos oriundos de Atenas e de 34% entre aqueles nascidos na ilha de Lesbos, sugerindo a existência de outros fatores predispondo para essa ocorrência ^{32, 37}.

Clinicamente, o recém-nascido pode se apresentar com icterícia ou, menos frequentemente, com anemia ⁹⁹. Muitas vezes os recém-nascidos ou suas nutrizes foram expostos a medicamentos. O aparecimento da icterícia é muito variável em termos de tempo, podendo ser precoce ou tardio. Doxiades et al. ³¹, em 90 crianças com deficiência G-6-PD e hiperbilirrubinemia, observaram que 67% dos recém-nascidos apresentaram icterícia nas primeiras 48 horas de vida. Karayalcim et al ⁵³ relataram aparecimento de icterícia em todos os seus casos nas primeiras 24 horas pós-nascimento. Porém, a icterícia pode surgir mais tardiamente, assemelhando-se à icterícia fisiológica. Harley et al. ⁴⁵, por sua vez, relataram a ocorrência de icterícia a partir do 23º dia de vida. A hiperbilirrubinemia é devida ao aumento da bilirubina não-conjugada, atingindo níveis elevados, principalmente nos recém-nascidos da região do Mediterrâneo, exigindo emprego frequente de exsangüineotransfusão ³⁰. Entre os recém-nascidos negros, na África, observaram-se níveis menos elevados ⁵⁸. Na maioria das vezes, os autores demonstraram sinais mínimos de hemólise ⁵⁸, completa ausência de hemólise ^{14, 16}, bem como, muitas vezes, não foram identificados agentes exógenos desencadeantes de hemólise ⁷³.

A hiperbilirrubinemia por deficiência de G-6-PD é indiscutivelmente de ocorrência frequente entre os recém-nascidos da

região do Mediterrâneo, portadores da variante Mediterrâneo. Em algumas regiões da Ásia observou-se grande importância da deficiência de G-6-PD como causa da icterícia neonatal 19,63, 91, 97. Em relação à variante A⁻, nota-se que constitui fator importante de icterícia neonatal em diversas regiões do continente africano 12,16,58, não ocorrendo o mesmo entre os negros americanos, portadores da mesma variante 77, 101, 104.

Muitas dessas variações estariam intimamente relacionadas, não só com o tipo da variante de G-6-PD, mas também com inúmeros outros fatores coadjuvantes. Dentre estes, parecem ganhar maior importância as alterações do clearance de bilirrubinas pelo fígado, que alguns autores observaram em recém-nascidos com hiperbilirrubinemia por deficiência de G-6-PD ou de etiologia desconhecida 14, 21, 62, 67, 68, 85, 98.

Até o presente, no sul do Brasil, encontramos referência de estudos sobre deficiência de G-6-PD somente no estado do Rio Grande do Sul 50, 59, 60. A maioria dos trabalhos brasileiros foram realizados nas populações do Nordeste e Região sudeste^{1,3,4,7-b,69,82,86}, que apresentam características raciais diferentes das da Região Sul.

Considerando também que são poucos os trabalhos que abordam aspectos clínicos da deficiência de G-6-PD no Brasil^{2,5}, em particular a correlação com icterícia neonatal, propomo-nos a estudar algumas particularidades desta enzimopenia.

OBJETIVOS

OBJETIVOS

1. Verificar a incidência de deficientes de G-6-PD entre os recém-nascidos negróides e caucasóides, masculinos e femininos, na Disciplina de Neonatologia do Departamento de Pediatria da Universidade Federal do Paraná;
2. Comparar as proporções observada e esperada de recém-nascidos femininos deficientes;
3. Verificar a possível correlação dessa enzimopenia com hiperbilirrubinemia neonatal durante as primeiras 48 horas de vida, comparando a incidência de deficientes de G-6-PD na população triada com a incidência na população de recém-nascidos com hiperbilirrubinemia.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

CASUÍSTICA E MÉTODOS

1. POPULAÇÃO DE REFERÊNCIA:

Recém-nascidos.

2. POPULAÇÃO DE ESTUDO:

Foram estudados 501 recém-nascidos escolhidos ao acaso por ocasião do nascimento, entre julho de 1978 e fevereiro de 1979, e que foram submetidos à triagem para detecção de deficiência de G-6-PD. Dos 501 recém-nascidos estudados, 256 eram do sexo masculino (132 caucasóides e 124 negróides) e 245 do sexo feminino (140 caucasóides e 105 negróides).

Desses 501 recém-nascidos, 427 foram estudados nas primeiras 48 horas de vida quanto à presença ou não de hiperbilirrubinemia. A população de recém-nascidos com hiperbilirrubinemia foi de 95 do sexo masculino (50 caucasóides e 44 negróides) e 85 do sexo feminino (50 caucasóides e 35 negróides).

3. EQUIPE DE TRABALHO

Foi composta pelo autor, Médicos Residentes do Departamento de Pediatria e Auxiliares de Enfermagem lotadas no Centro Obstétrico da Maternidade do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.

4. VARIÁVEIS ESTUDADAS:

4.1. Nos pais:

- raça
- grupo sanguíneo

4.2. Na gestação e puerpério:

- drogas utilizadas no pré-parto, durante o parto e pós-parto imediato.

4.3. No recém-nascido:

- sexo
- raça
- idade gestacional
- peso
- escore Apgar
- icterícia nas primeiras 48 horas de vida
- detecção de deficientes de G-6-PD
- grupo sanguíneo

5. CRITÉRIOS DIAGNÓSTICOS:

5.1. Raça:

Os recém-nascidos foram distribuídos em grupos de negróides e caucasóides. Não foram estudados recém-nascidos mongolóides. Foi definido como negróide todo recém-nascido cuja mãe, pai, ou ambos, apresentassem cor de pele morena ou negra. Quando se teve dúvida em caracterizar a cor dos pais, obtivemos dados sobre a cor dos tios e avós, procurando comprovar ou infirmar a ascendência negróide. Todo

recém-nascidos cujos pais eram brancos foi definido como caucasóide.

5.2. Hiperbilirrubinemia:

O autor observou os recém-nascidos durante as primeiras 48 horas de vida para detecção clínica de icterícia. Todos aqueles considerados ictericos clinicamente foram submetidos à dosagem plasmática de bilirrubinas totais por meio de bilirrubinômetro (American Optical Corporation, mod. 10.200).

Nós não temos trabalhos mostrando os níveis basais de bilirrubinas entre os nossos recém-nascidos, nos primeiros dias de vida. Assim sendo, definimos como hiperbilirrubinemia valores de bilirrubinas totais maiores que 5,6 mg/dl no recém-nascido com 24 horas de vida e 7,25 mg/dl no recém-nascido com 48 horas de vida, que são os valores médios obtidos numa amostragem de recém-nascidos brasileiros normais ⁵².

6. COLHEITA DO MATERIAL:

6.1. Sangue para detecção de deficiência de G-6-PD:

O sangue para a realização do exame para detecção de deficiência G-6-PD foi colhido do cordão umbilical, imediatamente após a laqueadura, através de punção de vasos umbilicais com agulhas 30 x 8 e seringas de plástico de 10 ml, descartáveis. Foram coletados 5 ml de sangue em frasco contendo como anticoagulante ACD (ácido cítrico - citrato de sódio -

dextrose) enriquecido com Inosina. Utilizou-se 0,15 ml de ACD por ml de sangue, sendo que a quantidade de Inosina usada foi de 4 mg por ml de sangue. O sangue colhido foi imediatamente acondicionado em geladeira, a 4°C.

6.2. Sangue para dosagem de bilirrubinas:

Foi colhido com tubo capilar, após se lancetar o calcanhar do recém-nascido. Antes da colheita do sangue, o calcanhar do recém-nascido foi aquecido com água morna durante 5 minutos, para facilitar a colheita.

7. TÉCNICA PARA DETECÇÃO DE DEFICIÊNCIA DE G-6-PD:

Utilizou-se a técnica preconizada por Brewer et al.¹⁷.

7.1. Material utilizado para a realização do exame:

7.1.1. Solução nº 1:

Glicose..... 5 g
Nitrato de Sódio..... 1,25 g
Água destilada: q.s.p. 100 ml

7.1.2. Solução nº 2:

Cloreto de azul de metileno tri-hidratado..... 150 mg
Água destilada: q.s.p. 1.000 ml

7.1.3. Uma amostra de sangue com hematócrito normal, que foi usada como controle.

7.1.4. Amostras de sangue examinadas. Quando estas amostras apresentavam hematócrito menor que 30%, era removida uma quantidade de plasma suficiente para corrigir o hematócrito para um valor entre 35% e 45%.

7.1.5. Tubos de hemólise do mesmo diâmetro.

7.1.6. Pipetas graduadas de 0,5ml, 2ml e 10ml.

7.1.7. Água destilada.

7.2. Descrição da técnica:

Dois tubos de hemólise, A e B, foram utilizadados para o sangue-controle, colocando-se 2ml desse sangue em cada tubo. Nos tubos subsequentes foram colocados 2 ml de sangue das amostras a serem examinadas. No tubo A não se acrescentou nada; no tubo B adicionou-se 0,1 ml da solução nº 1 e nos tubos subsequentes, 0,1 ml da solução nº 1 e 0,1 ml da solução nº 2.

Os tubos preparados foram invertidos 15 vezes, lentamente, e incubados durante 3 horas em banho-maria a 37°C. Após este tempo, transferiu-se 0,1 ml de cada tubo de hemólise para uma série de tubos correspondentes que continham 10 ml de água destilada .

Após isto, os tubos foram invertidos por várias vezes, para perfeita homogeneização, e em seguida foi realizada a leitura.

As amostras de sangue com atividade normal da enzima apresentaram cor vermelha clara, idêntica à cor do hemolisado do tubo-controle A. As amostras de sangue com atividade deficiente da enzima apresentaram coloração castanha, idêntica ao hemolisado do tubo-controle B (Figuras 1 e 2).

8. TRATAMENTO ESTATÍSTICO:

A incidência de recém-nascidos deficientes de G-6-PD, nos diferentes grupos, foi expressa em percentagem.

Foi comparada a incidência de deficientes entre os diferentes grupos da população triada. Comparou-se, também, a incidência de deficientes no grupo de recém-nascidos portadores de hiperbilirrubinemia com a incidência de deficientes na população triada. Dada a natureza das variáveis, as comparações foram realizadas utilizando-se o teste Z para percentagens. Em todos os casos, o nível de significância para rejeição da hipótese de igualdade foi sempre igual ou menor do que 5%.

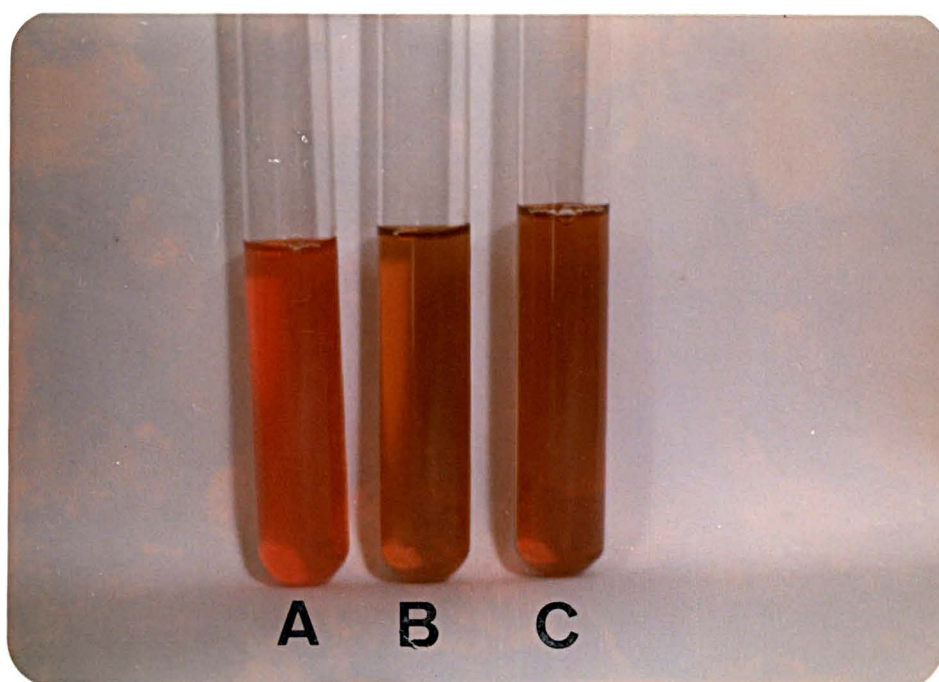


Figura 1: aspecto final de uma reação positiva para deficiência de G-6-PD (A = tubo-controle A, B = tubo-controle B, C = sangue com deficiência de G-6-PD).

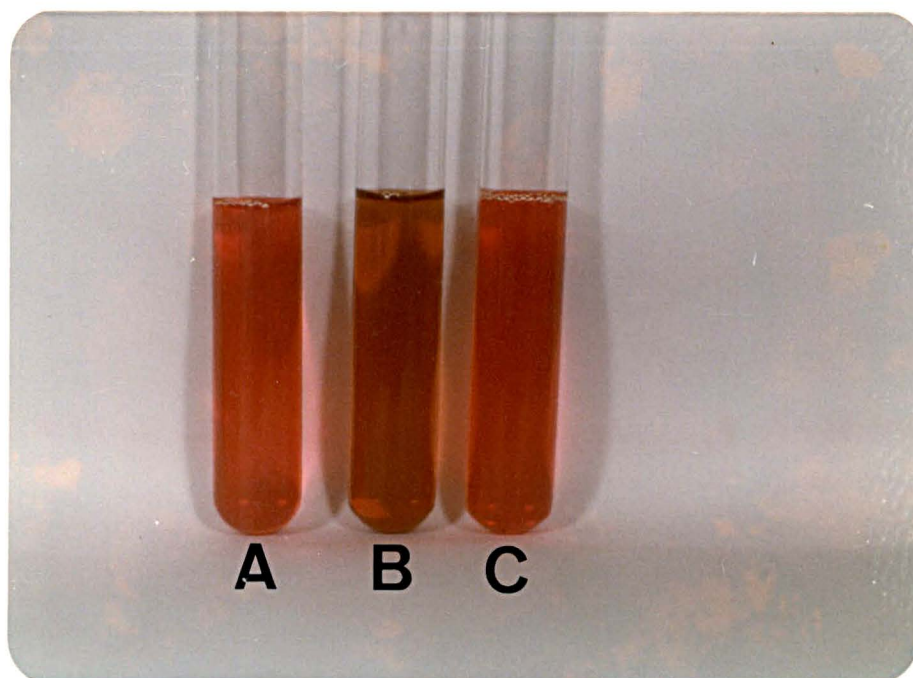


Figura 2: aspecto final de uma reação negativa para deficiência de G-6-PD (A = tubo-controle A, B = tubo-controle B, C = sangue normal).

RESULTADOS

RESULTADOS

1. Tabela 1: Incidência de deficientes de G-6-PD na população de recém-nascidos caucasóides.

Sexo	Normais	Deficientes	Total	% Deficientes
Masculino	129	3	132	2,27
Feminino	138	2	140	1,43
Total	267	5	272	1,84

Conforme mostra a Tabela 1, a incidência de deficientes de G-6-PD foi de 2,27% entre os recém-nascidos do sexo masculino e 1,43% entre os recém-nascidos do sexo feminino. As diferenças entre os grupos não são estatisticamente significantes a nível de 5%.

2. Tabela 2: incidência de deficientes de G-6-PD na população de recém-nascidos negróides.

Sexo	Normais	Deficientes	Total	% Deficientes
Masculino	117	7	124	5,64
Feminino	100	5	105	4,76
Total	217	12	229	5,24

Não se observa diferença estatística a nível de 5% entre a incidência de deficientes nos recém-nascidos masculino e femininos na Tabela 2.

3. Tabela 3: Incidência de deficientes de G-6-PD na população de recém-nascidos caucasóides e negróides.

Sexo	Normais	Deficientes	Total	% Deficientes
Masculino	246	10	256	3,91
Feminino	238	7	245	2,86
Total	484	17	501	3,39

As incidências de 3,91% de deficiência nos recém-nascidos masculinos e 2,86% de deficiência nos recém-nascidos femininos, segundo a Tabela 3, não diferiram estatisticamente a nível de 5%.

4. Tabela 4: Incidência de deficientes de G-6-PD na população de recém-nascidos masculinos e femininos.

Grupo Étnico	Normais	Deficientes	Total	% Deficientes
Caucasóide	267	5	272	1,84
Negróide	217	12	229	5,24
Total	484	17	501	3,39

Na população de recém-nascidos caucasóides, masculinos e femininos, a incidência de deficientes foi de 1,84%, enquanto que na população de recém-nascidos negróides, masculino e fe

mininos, a incidência foi de 5,24%, de acordo com os resultados da Tabela 4. A comparação entre esses grupos apresenta-se estatisticamente significativa a nível de 5%.

5. Tabela 5: Comparação entre a incidência de deficientes de G-6-PD na população triada de recém-nascidos caucasóides masculinos e a incidência na população de recém-nascidos caucasóides masculinos com hiperbilirrubinemia.

População	Normais	Deficientes	Total	% Deficientes
Triada	129	3	132	2,27
C/hiperb.	51	0	51	0,00

A comparação entre as incidências observadas na Tabela 5 não mostra diferença estatística a nível de 5%.

6. Tabela 6: Comparação entre a incidência de deficientes de G-6-PD na população triada de recém-nascidos caucasóides femininos e a incidência na população de recém-nascidos caucasóides femininos com hiperbilirrubinemia.

População	Normais	Deficientes	Total	% Deficientes
Triada	138	2	140	1,43
C/hiperb.	50	0	50	0,00

Não se observou diferença estatística a nível de 5% na comparação entre os grupos na Tabela 6.

7. Tabela 7: Comparação entre a incidência de deficientes de G-6-PD na população triada de recém-nascidos negróides masculinos e a incidência na população de recém-nascidos negróides masculinos com hiperbilirrubinemia.

População	Normais	Deficientes	Total	% Deficientes
Triada	117	7	124	5,64
C/hiperb.	40	4	44	9,09

As incidências de 5,64% de deficientes na população triada e 9,09% na população com hiperbilirrubinemia, na Tabela 7, não apresentaram diferença estatística a nível de 5%.

8. Tabela 8: Comparação entre a incidência de deficientes de G-6-PD na população triada de recém-nascidos negróides femininos e a incidência na população de recém-nascidos negróides femininos com hiperbilirrubinemia.

População	Normais	Deficientes	Total	% Deficientes
Triada	100	5	105	4,76
C/hiperb.	34	1	35	2,86

A comparação entre as incidências observadas na Tabela 8 não apresentou diferença estatística a nível de 5%.

9. Tabela 9: Comparação entre a incidência de deficientes de G-6-PD na população triada de recém-nascidos e a incidência na população de recém-nascidos com hiperbilirrubinemia.

População	Normais	Deficientes	Total	% Deficientes
Triada	484	17	501	3,39
C/hiperb.	180	5	185	2,70

A incidência de recém-nascidos portadores de deficiência de G-6-PD na população geral triada foi de 3,39% e 2,70% na população geral de recém-nascidos com hiperbilirrubinemia. A comparação entre os dois grupos não foi diferente estatisticamente a nível de 5%.

10. Tabela 10: Dados referentes aos recém-nascidos deficientes de G-6-PD sem hiperbilirrubinemia.

Caso nº	Peso Idade gesta_ cional Apgar	Drogas usadas (peri e pós- parto)	Sexo Raça	Parto
1	3.220g 38,5 semanas 9/10	cloranfenicol	masc. negróide	cesáreo
2	2.800g 40,0 semanas 9/10	cloranfenicol	fem. negróide	cesáreo
3	3.010g 40,0 semanas 7/9	não	fem. caucasóide	normal
4	3.110g 39,5 semanas 10/10	não	fem. caucasóide	normal
5	2.710g 39,5 semanas 7/9	não	masc. negróide	normal
6	3.700g 39,5 semanas 9/10	não	masc. negróide	normal
7	3.600g 40,0 semanas 8/9	não	fem. caucasóide	normal
8	3.050g 39,5 semanas 9/10	cloranfenicol	masc. caucasóide	cesáreo
9	2.600g 38,5 semanas 8/10	cloranfenicol	masc. caucasóide	cesáreo

11. Tabela 11: Dados referentes aos recém-nascidos deficientes de G-6-PD com hiperbilirrubinemia.

Caso nº	Peso Idade gesta- cional Apgar Parto	Drogas usadas (peri e pós- parto)	Bilirrubinas (valor máximo nas primeiras 48 horas)	Sexo Raça
1	2.940g 38,5 semanas 8/9 normal	não	7,5 mg/dl	masc. negróide
2	3.660g 41,5 semanas 9/10 normal	não	8,0 mg/dl	masc. caucasóide
3	2.920g 41,0 semanas 8/10 cesáreo	cloranfenicol	12,0 mg/dl	fem. negróide
4	2.010g 36,0 semanas 9/10 normal	não	7,5 mg/dl	masc. negróide
5	3.450g 40,0 semanas 9/10 normal	não	7,5 mg/dl	masc. negróide

12. Frequência esperada de recém-nascidos femininos deficientes de G-6-PD na amostra e proporção encontrada de recém-nascidos femininos deficientes.

Sendo a deficiência de G-6-PD determinada geneticamente por um gene ligado ao cromossomo X, tem-se que as frequências de fenótipos e genótipos serão idênticas no sexo masculino. Isso nos permite estimar a frequência de recém-nascidos femininos homozigotos e heterozigotos na amostra, em função da frequência observada no sexo masculino. Admitindo "q" como frequência do gene de deficiência de G-6-PD entre os recém-nascidos masculinos e "p" como a frequência do gene de G-6-PD não-deficiente, o cálculo da frequência de recém-nascidos homozigotos será dado por " q^2 " e o de heterozigotos, por " $2pq$ ". A frequência de recém-nascidos femininos que carregam o gene deficiente foi dada por " $q^2 + 2pq$ ". Logo, o número esperado de recém-nascidos femininos deficientes na amostra foi dados por " $(q^2 + 2pq) \times$ número de recém-nascidos femininos estudados". Seguem-se os cálculos para os grupos de recém-nascidos femininos caucasóides, negróides e da população geral de recém-nascidos femininos ⁷.

- 12.1. A. Cálculo da frequência esperada de recém-nascidos femininos caucasóides homozigotos e heterozigotos na amostra.

Frequência gênica

$$q = 0,0227$$

$$p = 0,9773$$

- A.1. frequência de recém-nascidos femininos homozigotos.

$$q^2 = 0,0227 = 0,0005$$

A.2. frequência de recém-nascidos femininos heterozigotos:

$$2pq = 2 \times 0,0227 \times 0,9773 = 0,0444$$

A.3. frequência de recém-nascidos caucasóides com o gene deficiente:

$$q^2 + 2pq = 0,0005 + 0,0444 = 0,0449$$

B. Proporção de recém-nascidos femininos caucasóides que manifestaram deficiência de G-6-PD:

Recém-nascidos femininos deficientes encontrados = "x" = 2

Recém-nascidos femininos deficientes esperados = "X" = $0,0449 \times 140 = 6,2$

Portanto, a proporção entre o número de recém-nascidos femininos caucasóides deficientes encontrados e o número de recém-nascidos femininos caucasóides deficientes esperados foi $"x"/"X" = 2/6,2$ ou 31,75%.

12.2. A. Cálculo da frequência esperada de recém-nascidos femininos negróides homozigotos e heterozigotos na amostra.

Frequência gênica:

$$q = 0,0564 \quad p = 0,9436$$

A.1. frequência de recém-nascidos femininos homozigotos:

$$q^2 = 0,0564^2 = 0,0032$$

A.2. frequência de recém-nascidos femininos heterozigotos:

$$2pq = 2 \times 0,0564 \times 0,9436 = 0,1064$$

A.3. frequência de recém-nascidos femininos negróides com o gene deficiente de G-6-PD:

$$q^2 + 2pq = 0,0032 + 0,1064 = 0,1096$$

B. Proporção de recém-nascidos femininos negróides que manifestaram deficiência de G-6-PD:

Recém-nascidos femininos deficientes encontrados
 $= "x" = 5$

Recém-nascidos femininos deficientes esperados
 $= "X" = 0,1096 \times 105 = 11,5.$

Portanto, a proporção entre o número de recém-nascidos femininos negróides deficientes encontrados e o número de recém-nascidos negróides esperados foi $"x"/"X" = 5/11,5$ ou 43,48%.

DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

O estudo da deficiência de desidrogenase de 6-fosfato de glicose, desde sua descrição em 1956 por Carson et al.²³, até os dias de hoje, mostra que sua distribuição é universal. Em algumas regiões a sua incidência ainda merece estudos, no sentido de se obter um mapeamento completo desta enzimopenia. Entre essas regiões podemos incluir o Brasil.

Calcula-se que mais de 300 milhões de pessoas, em todo o mundo, apresentam essa deficiência, se forem considerados ambos os sexos⁶⁵.

Tomando-se como base a linha do Equador, nota-se que a deficiência de G-6-PD é encontrada em ambos os lados e que vai diminuindo até desaparecer quase completamente nas regiões mais frias⁷⁶.

No continente africano, a variante Gd(-), A⁻ é a que assume maior importância pela sua alta incidência entre os negrôides. Na África do Sul a incidência de deficientes varia de 0% entre os brancos a 8,1% entre os Bantus da região nordeste do país¹⁶. Na Nigéria a incidência chega a 21,6% entre os adultos normais⁴². Incidência alta também se encontrou na Uganda (28%), Tanzânia (2-28%), Kênia (2-25%), Egito (2-26,4%) e Argélia (3,0%)^{8, 47, 64, 76}.

Na Europa ganha importância particular a incidência de deficientes entre os povos da região do Mediterrâneo, onde predomina a variante Gd(-), Mediterrâneo, de grande significado clínico. Na Grécia a incidência média é de 3%, mas em certas regiões chega a 46,6% ⁷⁶. Na Itália a incidência varia de 0% a 35% ^{76,88}. Nas demais regiões da Europa a incidência média é pequena ^{38, 76, 80, 90}.

No continente asiático, a incidência é também muito variável. Entre os chineses masculinos Lu et al. ⁶³ encontraram 3% de deficientes. Na Arábia Saudita, varia de 15% a 65% ⁴¹. Em Israel é encontrada uma incidência que varia de 0,4% entre os Judeus Ashkenazi a 58,2% entre os Judeus Kurdistani ^{73, 76}. No Kuwait, Shaker et al. ⁸⁹ encontraram 21,3% de deficientes entre os recém-nascidos e adultos do sexo masculino. Observou-se ainda incidência importante na Tailândia (7-33%) e Turquia (1-11%) ^{76,56}. Na Ásia devem ser assinaladas as variantes Mahidol e Canton, que mais se relacionam à hiperbilirrubinemia.

Na Oceânia deve-se destacar a alta incidência de deficientes, até 33%, em Nova Guiné e Papua, onde se observou ser causa importante de hiperbilirrubinemia neonatal ¹⁰⁰.

Nas Américas observou-se uma baixa incidência entre os caucasóides ^{76,82,84,86}. Porém, entre os negróides é alta a incidência de G-6-PD: 27% no Canadá ⁵⁷, 7-17% nos Estados Unidos da América ⁷⁶, 22,5% na Colômbia ⁸⁴ e 7-17% na Venezuela ⁷⁶. Entre os índios das Américas a presença de deficientes é quase nula ^{50, 75, 76, 84}.

A população brasileira, caracterizada por grande miscigenação de raças, por correntes migratórias internas e imigrações, apresenta alta incidência de deficientes nas regiões estudadas, onde os indivíduos negróides têm importância particular.

Ramalho & Beiguelman⁸², estudando indivíduos masculinos, doadores de sangue, em Campinas, São Paulo, encontraram uma incidência de 10,42% de deficientes entre os negróides e 2,56% entre os caucasóides. Ressalte-se a importância do achado, visto se tratar de uma população de doadores de sangue. Lewgoy & Salzano⁶⁰, em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, encontraram 3,6% de deficientes entre os brancos do sexo masculino, 18,8% entre os mulatos escuros e 9,3% entre os negros; entre as mulheres a incidência daquelas que apresentavam deficiência total variou de 1,2% entre as brancas a 3,6% entre as mulatas escuras. Saldanha et al.⁸⁶, em estudo realizado na cidade de São Paulo entre 660 indivíduos, encontraram uma incidência de 1,9% entre as mulheres e 2,7% entre os homens. No sexo masculino a incidência entre os caucasóides foi de 1,4% e entre os negróides foi de 8,2%. Entre os descendentes de japoneses, não encontraram nenhum deficiente. Barreto⁴, também em São Paulo, encontrou 3,27% de deficientes entre os homens e 1,59% entre as mulheres. A incidência entre os negróides masculinos foi de 5,88% e 6,8% entre os negróides femininos.

Marques & Campos⁶⁹ encontraram 7,8% de deficientes entre 1.000 negros do sexo masculino estudados em Minas Gerais. Na Bahia, Azevedo et al.³ obtiveram uma incidência de 11,3% entre os negros, 7,85% entre os mulatos escuros e 6,98% entre os mulatos médios.

Hutz⁵⁰, em Porto Alegre, encontrou 2,7% de deficientes do tipo Mediterrâneo e 1,6% do tipo A⁻ entre os caucasóides. Entre os negróides, 0,5% apresentou deficiência do tipo Mediterrâneo e 5,6% do tipo A⁻.

Entre os indígenas brasileiros, Neel et al. e Hutz^{76,84} não encontraram deficientes de G-6-PD, o que corrobora os achados de outros estudos entre os índios americanos.

O nosso estudo mostra uma incidência de 2,27% entre os caucasóides masculinos e 1,42% entre os caucasóides femininos (Tabela 1), e observamos que os nossos resultados são semelhantes àqueles encontrados por Barreto, Tamalho & Beiguelman, Saldanha et al. e Lewgoy & Salzano^{4, 60, 82, 86}. A maior incidência de deficientes entre caucasóides nos estudos de populações brasileiras foi observada por Hutz em Porto Alegre, porém, entre esses, 1,6% apresentavam variante A⁻, denotando possível miscigenação.

Comparando a incidência de deficientes de G-6-PD, no nosso estudo, de 5,64% entre os negróides masculinos e 4,76% entre os negróides femininos (Tabela 2) e a incidência entre os negróides em outras regiões brasileiras, notamos uma incidência mais baixa. A explicação poderia estar nas características da nossa população de negróides, possivelmente muito mais miscigenada que em outros estados, levando, conseqüentemente, a uma maior diluição de gene deficiente na população.

A proporção esperada de recém-nascidos femininos deficientes entre os caucasóides foi de 31,75% (item 12.1.B, pag.33)

e entre os negróides foi de 43,48% (item 12.2.B, pag. 34). Dada a baixa frequência absoluta esperada de recém-nascidos femininos homozigotos, podemos admitir que os recém-nascidos femininos deficientes por nós detectados sejam todos heterozigotos. Dentre os métodos de triagem para deficiência de G-6-PD, a técnica de Brewer et al., por nós utilizada, é uma das mais adequadas para detecção de heterozigotos. Segundo Fairbanks & Fernandez ³⁶, pode-se chegar à detecção de até 75% dos heterozigotos pela técnica de Brewer et al. ¹⁷. A detecção de uma proporção menor de heterozigotos poderia ser explicada pelo fato de termos considerado como deficiente de G-6-PD somente aqueles indivíduos cujo exame apresentasse coloração castanha (Figura 1), não considerando aqueles com coloração intermediária, que poderiam representar recém-nascidos femininos heterozigotos com deficiência enzimática leve. Barreto, em São Paulo, conseguiu detectar, na sua amostragem, 25% dos heterozigotos esperados.

Uma das preocupações em se conhecer a incidência de deficientes de G-6-PD, nas mais diferentes partes do mundo, é a associação desta enzimopenia com hiperbilirrubinemia neonatal.

Em 1960, Panizon ⁷⁹ descreveu vários casos de Kernicterus em recém-nascidos sem isoimunização, que tinham deficiência de G-6-PD ou cujos pais tinham apresentado favismo. Em 1960, Smith & Vella ⁹¹ apresentaram 14 casos de Kernicterus em crianças chinesas sem isoimunização e que apresentavam deficiência de G-6-PD. Doxiadis et al. ³⁰ em 1961, analisando 220 casos de exsangüineotransfusão, observaram que 105 dos recém-nascidos não apresentavam isoimunização, sendo que 25 desses evoluíram para

kernicterus. Desenvolvendo trabalho prospectivo, Doxiadis et al. demonstraram que, entre 17 casos de icterícia grave, sem isoimunização, 13 apresentavam deficiência de G-6-PD, colocando essa enzimopenia como fator importante de hiperbilirrubinemia na Grécia. Em 1962, Fessas et al.³⁷ calcularam que somente 5% dos recém-nascidos deficientes desenvolveriam hiperbilirrubinemia severa e postularam que fatores adicionais à deficiência de G-6-PD deveriam existir para o aparecimento de icterícia. Estudando um grupo de famílias com deficiência de G-6-PD, os mesmos autores mostraram que nos recém-nascidos desse grupo houve uma incidência muito mais elevada de hiperbilirrubinemia do que na população geral portadora de deficiência, levando-os a sugerir a ocorrência de um fator genético adicional como co-fator no desencadeamento da hiperbilirrubinemia. Em 1964, Doxiadis et al.³² observaram que, entre os recém-nascidos da ilha de Lesbos, 34% dos deficientes de G-6-PD apresentavam níveis de bilirrubinas superiores a 16 mg/dl, enquanto que em outras regiões da Grécia somente 4% dos deficientes apresentavam esses níveis de bilirrubinas. Segundo eles, essa diferença se deve, talvez, a uma co-fator genético, icterogênico, corroborando as observações de Fessas et al.

Entre os recém-nascidos da Singapura com deficiência de G-6-PD, a incidência de 10% de hiperbilirrubinemia severa é significativamente maior que 0,3% de hiperbilirrubinemia severa entre os recém-nascidos não-deficientes, segundo Brown & Boon¹⁹. Os autores observaram que entre os diferentes grupos raciais da região os níveis basais de bilirrubinas eram muito mais elevados que aqueles observados nos recém-nascidos de origem inglesa. O pico máximo de bilirrubinas séricas entre os recém-nascidos

não-deficientes foi de 4,4 mg/dl entre os ingleses, $11,2 \pm 3,7$ mg/dl entre os chineses e $10,0 \pm 3,3$ mg/dl entre os malasianos. Afir^umam os autores, portanto, que a maior incidência de hiperbi^ulirrubinemia entre os recém-nascidos da Singapura com deficiên^ucia dessa enzima, ocorre devido a um grau mínimo de hemólise as^usociada a um nível basal mais elevado de bilirrubinas e, ocasio^unalmente, a fatores exógenos.

Lu et al.⁶³, estudando recém-nascidos em Formosa, obser^uvaram que, entre 26 deficientes de G-6-PD, 38% apresentavam ní^uveis de bilirrubinas totais acima de 20 mg/dl. Por outro lado, somente 9,2% dos prematuros não-deficientes e 2,3% dos recém-nascidos a termo não-deficientes apresentavam tais níveis. Os autores não relatam evidência de fatores exógenos hemolisantes associados aos casos de hiperbilirrubinemia e tampouco sinais de hemólise em seus casos. Deve-se ressaltar que também entre os recém-nascidos de Formosa observaram-se níveis basais de bi^ulirrubinas mais elevados que entre outros grupos étnicos.

Em 1968, Valaes et al.⁹⁵ compararam os níveis de bilir^urubinas de recém-nascidos sem incompatibilidade sangüínea ma^uterno-fetal e sem deficiência de G-6-PD, da região de Lesbos, com níveis encontrados na região de Rhodes, na Grécia. O valor máximo em Lesbos foi de $9,43 \pm 4,3$ mg/dl, enquanto que em Rhodes foi de $7,88 \pm 4,8$ mg/dl, diferença esta significativa estatisti^ucamente.

Os trabalhos de Doxiadis et al., Valaes et al., Brown & Boon^{19,32,95} sugerem a presença de um fator icterogênico presen^ute em diferentes regiões e grupos raciais e que condicionaria a

presença ou não de hiperbilirrubinemia entre os recém-nascidos deficientes de G-6-PD.

Em Israel, Szeinberg et al.⁹³ concluíram que a deficiência de G-6-PD não é um fator importante de hiperbilirrubinemia, apesar da alta incidência de deficientes na população de Israel. Freier et al.³⁹, em Jerusalém, descreveram oito casos de hiperbilirrubinemia severa, com bilirrubinas totais acima de 18 mg/dl, em recém-nascidos com deficiência de G-6-PD, em um período de 9 meses. Os autores relacionaram a ocorrência desses casos com o uso de um antisséptico para o cordão umbilical (Triple Dye), dado que, após a suspensão do uso desse antisséptico, nos 9 meses seguintes não se observou nenhum caso de hiperbilirrubinemia severa por essa enzimopenia. Milbauer et al.⁷³, em Telaviv, observaram que 14,3% de 265 recém-nascidos com deficiência de G-6-PD apresentaram hiperbilirrubinemia, com bilirrubinas totais acima de 14 mg/dl, enquanto que somente 7,2% de 3.582 recém-nascidos não-deficientes apresentaram tais níveis, diferença esta, estatisticamente significativa. Os autores não conseguiram demonstrar presença de hemólise e tampouco presença de agentes externos reconhecidamente desencadeantes de hemólise em portadores dessa deficiência. No seu estudo, Milbauer et al.⁷³ não tiveram nenhum caso que necessitasse de exsangüineotransfusão, levando-os a sugerir que Szeinberg et al.⁹³ não encontraram correlação entre deficiência de G-6-PD e hiperbilirrubinemia por terem estudados somente recém-nascidos submetidos à exsangüineotransfusão.

Observa-se, portanto, que a correlação de deficiência de G-6-PD e hiperbilirrubinemia neonatal é evidente entre os recém-

nascidos da região do Mediterrâneo, onde predomina a variante Mediterrâneo, e em certas regiões do sul da Ásia, onde predominam as variantes Cantão e Mahidol.

Contudo, é controversa a participação dessa enzimopenia como fator de hiperbilirrubinemia entre os recém-nascidos negróides. Vários trabalhos mostram que a deficiência de G-6-PD é causa importante de hiperbilirrubinemia em algumas regiões da África. Bienzle et al.¹², em 1976, em Ibadan, Nigéria, concluíram que a deficiência de G-6-PD é a causa mais importante de hiperbilirrubinemia na Nigéria. Os autores chamam a atenção de que não conseguiram detectar sinais de hemólise entre os seus ¹⁴casos.

Levin et al.⁵⁸ encontraram, na África do Sul, entre recém-nascidos Bantus, 14% de deficientes entre os recém-nascidos ictéricos e 1,3% de deficientes entre os recém-nascidos anictéricos. Esta diferença é estatisticamente significativa e os autores sugerem que a ocorrência de hipóxia perinatal, com conseqüente lesão hepática, seria o fator coadjuvante para o desencadeamento de icterícia entre esses recém-nascidos. Levin et al. também não observaram evidência laboratorial de hemólise entre seus casos.

Botha & Path¹⁶ relataram 22 casos de hiperbilirrubinemia devido à deficiência de G-6-PD entre os diferentes grupos raciais da cidade do Cabo na África do Sul, entre os quais constatarem sinais mínimos de hemólise, nenhuma correlação com agentes exógenos e ausência de hipóxia perinatal.

Contrastando com os estudos realizados entre os recém-nascidos negros em vários países da África, autores americanos não conseguiram os mesmos resultados entre os recém-nascidos negros, a termo, nos Estados Unidos da América, que são portadores da mesma variante de G-6-PD, A⁻ dos negros da África^{77,101,104}. Porém, em 1979, Karayalcin et al.⁵³ estudando 90 recém-nascidos negros a termo, com icterícia de etiologia não identificada, observaram que 19 apresentavam deficiência de G-6-PD. Todos esses recém-nascidos tiveram Apgar igual ou superior a 8 no primeiro minuto de vida e nenhum deles sofreu hipóxia, acidose ou hipoglicemia. A icterícia surgiu nas primeiras 24 horas de vida e atingiu nível máximo no 4º dia, com média de 26,4 mg/dl de bilirrubinas. Lopez & Cooperman⁶² relataram 4 casos de hiperbilirrubinemia por deficiência de G-6-PD com sinais de hemólise bem evidentes. Por outro lado, Eshaghpour et al.³⁴ estudaram 10 recém-nascidos negros, pré-termos, com deficiência de G-6-PD, comparando com grupo-controle e observaram hiperbilirrubinemia mais severa nos deficientes. Nos pré-termos o tempo de sobrevivência das hemácias está diminuído, os níveis de catalase e peroxidase são menores e a vitamina E, antioxidante, também está diminuída, fazendo com que a concomitância de deficiência de G-6-PD aumente o risco de hiperbilirrubinemia.

Em nosso estudo, não observamos correlação entre deficiência de G-6-PD e hiperbilirrubinemia quando comparamos a incidência de deficientes entre os recém-nascidos com hiperbilirrubinemia e a incidência de deficientes na população geral (Tabelas 5,6,7,8,9). Na população triada, 17 dos 501 recém-nascidos eram deficientes, enquanto que entre os 180 recém-nascidos com hiperbilirrubinemia somente 5 eram deficientes, não ocorrendo

diferença estatística a nível de 5% entre os dois grupos. Os nossos resultados corroboram os achados de Azevedo et al.¹, que estudaram 94 recém-nascidos ictericos, negróides, em Salvador na Bahia, e não observaram correlação com deficiência de G-6-PD.

Dos 17 recém-nascidos deficientes, 14 foram observados quanto à presença ou não de icterícia nas primeiras 48 horas de vida e somente 5 apresentaram hiperbilirrubinemia segundo o critério por nós utilizado. Analisando os fatores mencionados como coadjuvantes no desencadeamento de hiperbilirrubinemia, observamos que somente um dos nossos recém-nascidos deficientes era pré-termo; não houve evidência de hipóxia perinatal, infecção, acidose e todos receberam 1mg de vitamina K₁. Dentre as drogas potencialmente desencadeantes de hemólise em deficientes de G-6-PD, observamos que cinco gestantes, cujos recém-nascidos mostraram ser deficientes, haviam recebido cloranfenicol. Porém, somente um dos recém-nascidos desenvolveu hiperbilirrubinemia (Tabelas 10,11).

No entanto, Ramalho⁸³, em Campinas, analisando 440 recém-nascidos, observou que 19 (4%) necessitaram de fototerapia por apresentarem icterícia moderada, sendo que 5 destes (26%) eram deficientes de G-6-PD, sugerindo ser esta deficiência uma causa importante de icterícia moderada na sua amostragem. O autor sugere que o uso de cloranfenicol nas mães dos recém-nascidos, no puerpério, possa ser o fator responsável pelo aumento da frequência de icterícia entre os recém-nascidos deficientes.

Observa-se relato de associação de deficiência de G-6-PD e hiperbilirrubinemia nas mais diversas partes do mundo, onde os

autores correlacionam o aparecimento da icterícia com agentes hemolíticos externos pela exposição direta do recém-nascido, pela circulação placentária ou pelo leite materno. Entre esses agentes hemolisantes incluem-se: naftalina^{51, 74}, sulfas¹⁸, AAS e fenacetina⁴⁶, antissépticos para uso no cordão umbilical³⁹, cloranfenicol e vitamina K^{30, 32, 83}. A evidência de hemólise exterioriza-se por queda do hematócrito, hemoglobinúria, reticulocitose, fragmentos eritrocitários e corpúsculos de Heinz nos eritrócitos. São inúmeros os relatos de associação de icterícia e deficiência de G-6-PD que tiveram como fator exógeno hemolisante o uso de análogos da vitamina K^{30, 32, 96}. Capps et al.²² e Zinkham¹⁰⁴, em estudo prospectivo entre recém-nascidos negros, não observaram desencadeamento de hemólise com o uso de análogos da vitamina K. Zinkham concluiu no seu trabalho que a dose de 1mg de vitamina K₁ é suficiente e sem efeitos colaterais, propondo essa dosagem na profilaxia da doença hemorrágica do recém-nascido. Doxiadis et al.³¹, porém, comentam que o uso de vitamina K, mesmo nessa dosagem, poderia desencadear hemólise em recém-nascidos com deficiência de G-6-PD, portadores de variantes mais deficientes que a variante A⁻ dos negróides, como nos portadores da variante Mediterrâneo.

Embora muitos autores relatem a presença de substâncias hemolisantes relacionadas ao aparecimento de hiperbilirrubinemia em recém-nascido com deficiência de G-6-PD^{18, 30, 32, 39, 74, 91} e outros evidenciarem alterações hematológicas que demonstrem presença de hemólise, a maioria dos autores observa que comumente na hiperbilirrubinemia por deficiência de G-6-PD ocorre pouca evidência de hemólise^{14, 16, 70, 71, 73}. Isto tem levado à hipótese de que estaria ao nível hepático a explicação fisiopatológica da hiperbilirru

binemia por deficiência de G-6-PD. Em 1973, Malaka-Zafiriu et al.⁶⁷ demonstraram que recém-nascidos com hiperbilirrubinemia por deficiência de G-6-PD ou de etiologia desconhecida apresentavam uma diminuição na formação de glicoronídeos de salicilamida, sugerindo diminuição do clearance hepático das bilirrubinas nesses recém-nascidos. Em 1975, Malaka-Zafiriu et al.⁶⁸ demonstraram que recém-nascidos com hiperbilirrubinemia por deficiência de G-6-PD e de etiologia desconhecida apresentavam uma diminuição acentuada na excreção de ácido D-glicárico de origem endôgena, provavelmente devido à diminuição da atividade das enzimas envolvidas na formação do ácido glicurônico. Meloni et al.⁷², em 1978, estudando a formação de glicoronídeos de salicilamida em recém-nascidos com deficiência de G-6-PD, chegaram aos mesmos resultados de Malaka-Zafiriu et al.^{67,68}.

Deve-se também salientar que muitos autores têm sugerido alterações de outras enzimas do ciclo das pentoses que poderiam estar envolvidas no aparecimento de hiperbilirrubinemia nos recém-nascidos com deficiência de G-6-PD. Entre essas alterações estariam níveis baixos de: redutase de metemoglobina, redutase do glutatíão e peroxidase do glutatíão^{11,13,98}. Porém, esses estudos não apresentam dados conclusivos, havendo, portanto, necessidade de mais pesquisas sobre a possível participação dessas enzimas na hiperbilirrubinemia por deficiência de G-6-PD¹³.

Pelo exposto, para se explicar a não-correlação de hiperbilirrubinemia e deficiência de G-6-PD em muitas regiões, é válido aceitar a existência de um fator icterogênico, possivelmente a nível hepático conforme sugerem os trabalhos de Zafiriu et al.^{67,68} e Meloni et al.⁷². Acredita-se que esse fator seja

ambiental e não, genético. Corroborando esta hipótese, estaria a diferença observada entre recém-nascidos negróides da África e das Américas, portadores da mesma variante deficiente, bem como de Drew et al.³³, que não encontraram correlação entre deficiência de G-6-PD e hiperbilirrubinemia, estudando recém-nascidos cujos pais eram imigrantes gregos radicados em Melbourne, Austrália.

A falta de correlação entre hiperbilirrubinemia e deficiência de G-6-PD, por nós observada, poderia possivelmente ser explicada pelas razões anteriormente mencionadas.

Embora nossos resultados mostrem não ser a deficiência de G-6-PD causa de hiperbilirrubinemia nas primeiras 48^o horas de vida, não podemos excluir a possibilidade de ocorrência esporádica de hiperbilirrubinemia precoce devido a essa deficiência enzimática, eventualmente relacionada a alguns dos fatores coadjuvantes já conhecidos. Por outro lado, a ocorrência de hiperbilirrubinemia tardia merece estudos futuros, de modo que possamos ter uma visão completa de tal problemática entre os nossos recém-nascidos.

CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

1. A incidência de deficiência de G-6-PD nos recém-nascidos caucasóides foi de 2,27% no sexo masculino e de 1,43% no sexo feminino.
2. A incidência de deficiência de G-6-PD nos recém-nascidos negróides foi de 5,64% no sexo masculino e de 4,76% no sexo feminino.
3. A incidência de deficiência de G-6-PD nos recém-nascidos do sexo masculino, caucasóides e negróides, foi de 3,91%.
4. A incidência de deficiência de G-6-PD nos recém-nascidos do sexo feminino, caucasóides e negróides, foi de 2,86%.
5. A proporção de recém-nascidos femininos heterozigotos deficientes de G-6-PD detectada pelo método de Brewer et al. foi de 31,75% entre os caucasóides e 43,48% entre os negróides.
6. Os resultados do presente estudo sugerem que a deficiência de G-6-PD não foi causa de hiperbilirrubinemia nas primeiras 48 horas de vida entre os nossos recém-nascidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AZEVEDO, E.S. & AZEVEDO, T.F.S. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and neonatal jaundice in Bahia, Brazil. Ci. Cult., 26: 1044-7, 1976.
2. AZEVEDO, E.S. Deficiência da glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD). Ci. Cult., 30: 313-9, 1978.
3. AZEVEDO, W.C.; SILVA, M.L.F.; GRASSI, M.C.B.; AZEVEDO, E. S. Deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase em pacientes de um hospital geral de Salvador, Bahia, Brasil. Rev. Bras. Pesq. Med. Biol., 11: 49-52, 1978.
4. BARRETO, O.C.O. Erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in São Paulo, Brazil. Rev. Bras. Pesq. Med. Biol., 3: 61-5, 1970.
5. BEIGUELMAN, B. Polimorfismos de importância clínica no Brasil. Ci. Cult., 29: 876-88, 1977
6. _____. Deficiência de desidrogenase de 6-fosfato de glicose. In _____. Genética Médica. Farmacogenética e sistemas sanguíneos eritrocitários em genética e na prática médica, 1. ed. São Paulo, EDART, 1979, v.3, cap.2, 25-35.

7. _____. Genética de populações: A lei de Hardy e Weinberg e suas aplicações. In _____. Genética Médica. Dinâmica dos genes nas famílias e nas populações, 1. ed. São Paulo, EDART, 1977, v.2, cap. 7, p.255-72.
- 7-b. BEIGUELMAN, B.; PINTO Jr. W.; DALL'AGLIO, F.F.; SILVA, E. da; VOZZA, J.A. G-6-PD deficiency among lepers and healthy people in Brazil. Acta Genet., 18:159-62, 1968.
8. BERNABADJI, M.; BENLATRACHE, C.; MERAD, F.; SUAUDEAUE, C.; BENMOUSSA, M.; KORNPORST, G.; GLADEL, D. Le déficit en glucose-6-phosphate dehydrogenase en Algérie. Sem. Hop. Paris., 53: 899-903, 1977.
9. BEUTLER, E. Annotation: glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Brit. J. Haematol., 18: 112-21, 1970.
10. _____. Abnormalities of the hexose monophosphate shunt. Semin. Hematol., 8: 311-47, 1971.
11. _____. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and red cell glutathione peroxidase. Blood, 49: 467-9, 1977.
12. BIENZLE, U.; EFFIONG, C.; LUZZATO, L. Erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency (G6PD type A⁻) and neonatal jaundice. Acta Paediatr. Scand., 65: 801-3, 1976.
13. BIENZLE, U.; EFFIONG, G.; AIMAKU, V.E.; LUZZATO, L. Erythrocyte enzymes in neonatal jaundice. Acta Haematol., 55: 10-20, 1976.
14. BIENZLE, U.; EFFIONG, G.; LUZZATO, L. Letters to the editor. Acta Paediatr. Scand., 66: 403-4, 1977.

15. BOON, W.H. Viral hepatitis in G-6-PD. deficiency. Lancet, 1: 882-3, 1966.
16. BOTHA, M.C. & PATH, F.C. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and neonatal jaundice among population groups of Cape town. S. Afr. Med. J., 41: 174-80, 1967.
17. BREWER, G.J.; TARLOV, A. R.; ALVING, A.S. Methaemoglobin reduction test: a new, simple, in vitro test for identifying primaquine-sensitivity. Bull. Wld. Hlth. Org., 22: 633-40, 1960.
18. BROWN, A.K. & CEVIK, N. Hemolysis and jaundice in the newborn following maternal treatment with sulfamethoxypyridanize. Pediatrics, 36: 742-4, 1965.
19. BROWN, W.R. & BOON, W.H. Hyperbilirubinemia and Kernicterus in glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient infants in Singapore. Pediatrics, 41: 1055-62, 1968.
20. BURKA, E.R., WEAVER, Z.; MARKS, P.A. Clinical spectrum of hemolytic anemia associated with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Ann. Intern. Med., 64: 817-25, 1966.
21. CAMPBELL, G.D.; STEINBERG, M.H.; BOWER, J.D. Ascorbic acid-induced hemolysis in G-6-PD deficiency. Ann. Intern. Med., 82: 810, 1975.
22. CAPPS, F.P.A.; GILLES, H.M.; JOLLY, H.; WOLLEDGE, S.M. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and neona

tal jaundice in Nigeria. Their relation to the use of prophylactic vitamin K. Lancet, 2: 379-83, 1963.

23. CARSON, P.E.; FLANAGAN, C.L.; ICKES, C.E.; ALVING, A.S. Enzymatic deficiency in primaquine-sensitive erythrocytes. Science, 124: 484, 1956.
24. CARSON, P.E. & FRISCHER, H. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and related disorders of the pentose phosphate pathway. Am. J. Med., 41: 744-61, 1966.
25. CARVALHO, N.E. & DONIN, C. Incompatibilidade "AB0" uma doença emergente? J. Pediatr., Rio de Janeiro, 45: 386-91, 1979.
26. CHAN, T.K. & TODD, D. Haemolysis complicating viral hepatitis in patients with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Brit. Med. J., 1: 131-3, 1975.
27. DAS, B.N.; BHAKOO, O.N.; JOLLY, J.G. Neonatal hyperbilirubinemia associated with glucose-6-phosphate-dehydrogenase deficiency. A preliminary study. Indian Pediatr., 11: 645-8, 1974.
28. DERN, R.J.; WEINSTEIN, I.M.; LEROY, G.V.; TALMAGE, D.W.; ALVING, A.S. The hemolytic effect of primaquine. The localization of the drug-induced hemolytic defect in primaquine-sensitive individuals. J. Lab. Clin. Med., 43: 303-9, 1954.

29. DOXIADIS, S.A.; FESSAS, P.; VALAES, T. Erythrocyte enzyme deficiency in unexplained kernicterus. Lancet, 2: 44-5, 1960.
30. _____. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. A new etiological factor of severe neonatal jaundice. Lancet, 1: 297-301, 1961.
31. DOXIADIS, S.A. & VALAES, T. The clinical picture of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in early infancy. Arch. Dis. Child., 39: 545-53, 1964.
32. DOXIADIS, S.A.; RARAKLIS, A.; VALAES, T.; STAVRAKAKIS, D. Risk of severe jaundice in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Lancet, 2: 1210-2, 1964.
33. DREW, J.H.; SMITH, M.B.; KITCHEN, W.H. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in immigrant Greek infants. J. Pediatr., 90: 659-77, 1976.
34. ESHAGHPOUR, E.; OSKI, F.A.; WILLIAMS, M. The relationship of erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency to hyperbilirubinemia in Negro premature infants. J. Pediatr., 70: 595-601, 1967.
35. EYS, J.V. Recent progress in genetic hemolytic disorders: a practical approach. Pediatr. Clin. N. Amer., 17: 449-65, 1970.
36. FAIRBANKS, V.F. & FERNANDEZ, M.N. The identification of metabolic errors associated with hemolytic anemia. J.A.M.A., 208: 316-20, 1969.

37. FESSAS, P.; DOXIADIS, S.A.; VALAES, T. Neonatal jaundice in glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient infants. Brit. Med. J., 2: 1359-62, 1962.
38. FRASER, G.R.; GRUNWALD, P.; STAMATOYANNOPOULOS, G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency, abnormal haemoglobins, and thalassaemia in Yugoslavia. J. Med. Genet., 3: 35-41, 1966.
39. FREIER, S.; MAYER, K.; LEVENE, C.; ABRAHAMOV, A. Neonatal jaundice associated with familial G6PD deficiency in Israel. Arch. Dis. Child., 40: 280-3, 1965.
40. FUNG, R.H.P.; KEUNG, Y.K.; CHUNG, G.S.H. Screening of pyruvate kinase and G6PD deficiency in chinese newborn in Hong Kong. Arch. Dis. Child., 44: 373-6, 1969.
41. GELPI, A.P. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Saudi Arabia: a survey. Blood, 25: 486-93, 1965.
42. GILES, H.M.; HENDRICKSE, R.G.; LINDNER, R.; REDDY, S.; ALLAN, N. Glucose-6-phosphate-dehydrogenase deficiency sickling, and malaria in african children in south wester Nigeria. Lancet, 1: 138-40, 1967.
43. GILMAN, P.A. Hemolysis in the newborn infant resulting from deficiencies of red blood cell enzymes: diagnosis and management. J. Pediatr. 84: 625-34, 1974.
44. GROSS, R.T.; BRACCE, R.; RUDOLPH, N.; SCHROEDER, E.; KOCHEN,

- J.A. Hydrogen peroxide toxicity and detoxication in the erythrocytes of newborn infants. Blood, 29: 481-93, 1967.
45. HARLEY, J.D. & ROBIN. "Late" neonatal jaundice in infants with glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient erythrocytes. Aust. Ann. Med., 11: 148-55, 1962.
46. _____. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: pre-natal, and post-natal implications. Med. J. Aust., 1: 198-201, 1963.
47. HASHEM, N. & NOUR, A. Studies on G-6-PD deficiency in egyptian families. J. Med. Genet., 6: 150-6, 1969.
48. HERSKO, C. & VARDY, P.A. Haemolysis in typhoid fever in children with G-6-PD deficiency. Brit. Med. J., 1: 214-5, 1967.
49. HOCKWALD, R.S.; CLYMAN, C.B.; ALVING, A.S. Toxicity of primaquine in negroes. J.A.M.A., 149: 1568-71, 1952.
50. HUTZ, M.H. Tipos de glicose-6-fosfato desidrogenase e 6-fosfogliconato desidrogenase em populações de diferentes etnias. Dissertação de mestrado. Porto Alegre, 1976/ citado por/AZEVEDO, E.S. Deficiência da glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD). Ci. Cult., 30: 313-9, 1978.
51. JIM, R.T.S. & CHU, F.K. Hyperbilirubinemia due to glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in a newborn chinese infant. Pediatrics, 31: 1046-9, 1963.

52. JOAQUIM, M.C.M.; BARROS, M.D.De.; JÁCOMO, A.J.D.; RIBEIRO, O.L. Bilirrubinemia em recém-nascidos de termo nas primeiras 72 horas de vida. J. Pediatr., Rio de Janeiro, 45: 239-42, 1978.
53. KARAYALCIN, G.; ACS, H.; LANZKOWSKI, P. G-6-PD deficiency and hyperbilirubinemia in black american full-term infants. NY. State J. Med., 1: 22-4, 1979.
54. KATTAMIS, C.A. & TJORTJATOU, F. The hemolytic process of viral hepatitis in children with normal or deficient glucose-6-phosphate dehydrogenase activity. J. Pediatr., 77: 422-30, 1970.
55. KELLERMEYER, R.W.; CARSON, P.E.; SCHRIER, S.L.; TARLOV, A. R.; ALVING, A.S. The hemolytic effect of primaquine. XIV. Pentose metabolism in primaquine-sensitive erythrocytes. J. Lab. Clin. Med., 58: 715-24, 1961.
56. KRUATRACHUE, C.; CHAROENLAR, P.; CHONGSUPHAJAIISIDDHI, J.; HARINASUTA, C. Erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase and malaria in Thailand. Lancet, 2: 1183-6, 1962.
57. LANGLEY, G.R.; TODD, F.R.; BISHOP, A.J. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in canadian negroes. Canad. Med. Ass. J., 100: 973-7, 1969.
58. LEVIN, S.E.; CHARLTON, R.W.; FREIMAN, I. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and neonatal jaundice in South African Bantu infants. J. Pediatr., 65: 757-63, 1964.

59. LEWGOY, F. & SALZANO, F.M. Frequência de indivíduos deficientes em glicose-6-fosfato desidrogenase na população negra de Porto Alegre. Ci. Cult., 16: 248-9, 1964.
60. _____. Dinâmica do gen que condiciona a deficiência em G-6-PD na população de Porto Alegre. Ci. Cult. 17:152, 1965.
61. LISKER, R.; BRICENO, R.P.; ZAVALA, C.; NAVARRETTE, J.I.; WESSELS, M.; YOSHIDA, A. A glucose-6-phosphate dehydrogenase Gd(-) Castilla variant characterized by mild deficiency associated with drug-induced hemolytic anemia. J. Lab. Clin. Med., 90: 754-9, 1977.
62. LOPEZ, R. & COOPERMAN, J.M. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and hyperbilirubinemia in the newborn. Amer. J. Dis. Child. 122: 66-70, 1971.
63. LU, T.C.; WEI, H.; BLACKWELL, R.Q. Increased incidence of severe hyperbilirubinemia among newborn chinese infants with G-6-PD deficiency. Pediatrics, 37: 994-9, 1966.
64. LOTHE, F. Erythrocyte G-6-PD deficiency in Uganda. Nature, 215: 299-300, 1967.
65. LUZZATTO, L. New developments in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Israel J. Med. Sci., 9: 1484-98, 1973.
66. MAISELS, M.J. Icterícia neonatal. In: AVERY, G.B. Neonatalogia: fisiopatologia e cuidado do recém-nascido. 1.ed.

São Paulo, Artes Médicas, 1978, Cap. 19, p. 325-58.

67. MALAKA-ZAFIRIU, K.; TSIURES, I.; DANIELIDES, B.; CASSIMOS, C. Salicylamide glucuronide formation in newborn severe jaundice of unknown etiology and due to glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Greece. Helv. Paediatr. Acta, 28: 323-9, 1973.
68. MALAKA-ZAFIRIU, K.; CASSIMOS, C. D-Glucaric acid excretion in newborns with severe jaundice of unknown etiology and due to glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Greece. Helv. Paediatr. Acta, 30: 201-7, 1975.
69. MARQUES, J. & CAMPOS, J.O. Incidência da deficiência de glicose-6-fosfato deidrogenase em negros de Minas Gerais. Rev. Ass. Med. Brasil., 21: 111-2, 1978
70. MELONI, T.; COSTA, S.; CUTILLO, S. Haptoglobin, Hemopexin, Hemoglobin and hematocrit in newborns with erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Acta haematol., 54: 284-8, 1975.
71. _____. Three years experience in preventing severe hyperbilirubinemia in newborn infants with erythrocyte G-6-PD deficiency. Biol. Neonate, 28: 370-4, 1976.
72. MELONI, T.; COSTA, S.; CORTI, R.; CUTILLO, S. Salicylamide glucuronide formation in newborn babies with G-6-PD deficiency. Biol. Neonate, 33: 189-92, 1978.

73. MILBAUER, B.; PELED, N.; SVIRSKI, S. Neonatal hyperbilirubinemia and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Israel J. Med. Sci., 9: 1547-52, 1973.
74. NAIMAN, J.L. & KOSOY, M.H. Red cell glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency - a newly recognized cause of neonatal jaundice and kernicterus in Canada. Canad. Med. Ass. J., 91: 1243-9, 1964.
75. NEEL, J.V.; SALZANO, F.M.; JUNQUEIRA, P.C.; KEITER, F.; LEWIS, D. Studies on the Xavantes indians of Brazilian Mato Grosso. Amer. J. Hum. Genet., 16: 52-140, 1964.
76. NUNEZ CARRIL, J.; MORA LARA, R.J.; RODRIGUES CUARTERO, A. Enzimopatía glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa. Genética. Epidemiología mundial y nacional. Rev. Clin. Esp., 131: 341-8, 1973.
77. O'ELYNN, M.E.D. & HSIA, D.Y.Y. Serum bilirubin levels and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in newborn American negroes. J. Pediatr., 63: 160-1, 1963.
78. OSKI, F.A. & NAIMAN, J.L. Disorders of red cell metabolism. In: Hematologic Problems in the Newborn. 2. ed. Philadelphia, Saunders, 1972. Cap.5, p. 83-132.
79. PANIZON, F. Erythrocyte enzyme deficiency in unexplained kernicterus. Lancet, 2: 1093, 1960.
80. PELLICER, A. & CASADO, A. Frequency of thalassemia and G6PD deficiency in five provinces of Spain. Amer. J. Human Genet., 22: 298-303, 1970.

81. PHILIPS, S.M. & SILVERS, N.P. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, infections hepatitis, acute hemolysis, and renal failure. Ann. Intern. Med., 70:99-104, 1969.
82. RAMALHO, A.S. & BEIGUELMAN, B. Deficiencia de desidrogenase de 6-fosfato de glicose (G-6-PD) em doadores de sangue brasileiros. Folha Méd., 73: 281-3, 1976.
83. RAMALHO, A.S. Deficiência de G6-PD em recém-nascidos brasileiros e sua correlação com a icterícia neonatal. In: Estudo médico de polimorfismos genéticos de importância clínica no Brasil. / Tese a ser apresentada à Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo. /
84. RESTREPO, A. & GUTIERREZ, E. The frequency of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Colombia. Amer.J. Human Genet., 20: 82-3, 1968.
85. ROSS, J.D. Deficient activity of DPNG-dependent methemoglobin diaphorase in cord blood erythrocytes. Blood, 21: 51-62, 1963.
86. SALDANHA, P.H.; NÓBREGA, F.G.; MAIA, J.C.C. Distribution and heredity of erythrocyte G6PD activity and electrophoretic variants among different racial groups at São Paulo, Brazil. J. Med. Genet., 6: 48-54, 1969.
87. SALEN, G.; GOLDSTEIN, F.; HAURANI, F.; WIRTS, C.W. Acute hemolytic anemia complicating viral hepatitis in patients

- with glucose-6-phosphate dehydrogenase. Ann. Intern. Med., 65: 1210-20, 1966.
88. SCHILIRO, G.; RUSSO, A.; CURRERI, R.; MARINO, S.; SCIOTTO, A.; RUSSO, G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Sicily. Incidence, biochemical characteristics and clinical implications. Clin. Genet., 15: 183-8, 1979.
 89. SHAKER, Y.; ONSI, A.; AZIZ, R. The frequency of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in the newborns and adults in Kuwait. Amer. J. Human Genet., 18: 609-13, 1966.
 90. SONNET, J.; LIEVENS, M.; VERPOORTEN, C.; KRIEKEMANS, J.; ECKELS, R. Sporadic G6PD deficiency with haemolytic anaemia in two children of west european ancestry. Brit. J. Haematol., 28: 299-310, 1974.
 91. SMITH, G.D. & VELLA, F. Erythrocyte enzyme deficiency in unexplained kernicterus. Lancet, 1: 1133-4, 1960.
 92. STAMATOYANNOPOULOS, G.; FRASER, G.; MOTULSKY, G.R.; FESSAS, P.; AKRIVAKIS, A.; PAPAYANNOPOULOU, T. On the familial predisposition to favism. Amer. J. Human Genet., 18: 253-63, 1966.
 93. SZEINBERG, A.; OLIVER, M.; SCHMIDT, R.; ADAM, A.; SHEBA, C. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and hemolytic disease of the newborn in Israel. Arch. Dis. Child., 38: 23-8, 1963.

94. TORO, A.T.; ALLANDE, R.S.; GONZÁLEZ, A.B. Algunos Aspectos clínicos y genéticos de pacientes con anemia hemolítica por deficiencia de la dehidrogenasa de la glucosa 6-fosfato (DG6F). Bol. Med. Hosp. Infant. Mex., 32: 211-25, 1976.
95. VALAES, T.; KARAKLIS, A.; STRAVRAKAKIS, S.; BAVELA-STRAVRAKAKIS, J.; PERAKIS, A.; DOXIADIS, S.A. Incidence and mechanism of neonatal jaundice related to glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Pediatr. Res., 3: 448, 1969./citado por/VALAES, T. Bilirrubin and red cell metabolism in relation to neonatal jaundice. Postgrad. Med. J., 45: 86-106, 1969.
96. VALAES, T. Bilirrubin and red cell metabolism in relation to neonatal jaundice. Postgrad. Med. J., 45: 86-107, 1969.
97. WETHERALL, D.J. Enzyme deficiency in haemolytic disease of the newborn. Lancet, 2: 835-6, 1960.
98. WHAUN, J.M. & OSKI, F.A. Relation of red cell glutathione peroxidase to neonatal jaundice. J. Pediatr., 76: 555-60, 1970.
99. WILLOUGHBY, M.L.N. Hereditary non-spherocytic haemolytic anaemia (enzyme deficiencies). In: _____. Paediatric Haematology. 1. ed. Edinburgh, Churchill Livingstone, 1977, Cap. 7, p. 89-109.
100. WOODFIELD, D.G. & BIDDULPH, J. Neonatal jaundice and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Papua New Guinea. Med. J. Aust., 1: 443-6, 1975.

101. WOLFF, J.A.; GROSSMAN, B.H.; PAYA, K. Neonatal serum bilirubin and glucose 6-phosphate dehydrogenase. Amer. J. Dis. Child., 113: 251-4, 1967.

102. YOSHIDA, A.; BEUTLER, E.; MOTULSKI, A.G. Human glucose-6-phosphate dehydrogenase variants. Bull. Wld.Hlth.Org., 45: 243-53, 1971.

103. YOSHIDA, A. Hemolytic anemia and G6PD deficiency. Science, 179: 532-37, 1973.

104. ZINKHAM, W.H. Peripheral blood and bilirubin values in normal full-term primaquine-sensitive negro infants: effect of vitamin K. Pediatrics, 31: 983-95, 1963.